

# 丹参水溶性成分含量变化对大鼠离体心肌能量代谢调节的影响

黄黎华<sup>1</sup>, 陈渊成<sup>2</sup>, 程昱<sup>1</sup>, 何华<sup>1</sup>, 司倩<sup>1</sup>, 汤依群<sup>1,3</sup>, 柳晓泉<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>中国药科大学药物代谢动力学研究中心, 南京 210009; <sup>2</sup>复旦大学附属华山医院抗生素研究所, 上海 200040;

<sup>3</sup>中国药科大学临床药理学教研室, 南京 210009)

**摘要** 通过离体心肌缺血/再灌注模型, 考察丹参注射液各水溶性成分含量变化对大鼠离体心肌能量代谢调节的影响。大鼠随机分为模型对照组、丹参注射液组和 4 个成分外加组。大鼠离体心脏发生缺血/再灌注时给予相应药物, 测定心肌组织中乙酰辅酶 A (AcCoA)、辅酶 A (CoA)、高能磷酸化合物及心肌缺血损伤标记物[乳酸(LD)、乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶(CK)]等药效指标。与对照组相比, 外加原儿茶酸(PA)组显著降低 AcCoA/CoA 比值( $P < 0.05$ ), 显著升高总腺苷(TAN)和腺苷酸能荷(AEC) ( $P < 0.05$ ); 外加丹酚酸 B (SalB) 组所造成的影响与外加 PA 类似, 但对能量代谢指标的调节作用总体弱于 PA。对实验数据建立反向传播神经网络模型, 采用 Garson 算法计算 4 种水溶性成分对药效指标的贡献率。各成分对脂肪酸代谢类和高能磷酸化合物类指标的影响排序从大到小依次为: PA、SalB、SalA、DSS; 心肌缺血损伤标记物受各成分含量的影响顺序从大到小依次为: PA、SalB、DSS、SalA。结果提示, 丹参注射液水溶性成分含量的改变能增加心肌 ATP 储备, 升高腺苷酸能荷值, 同时降低心肌组织中 AcCoA/CoA 比值, 从而提高心肌能量代谢效率, 这种作用尤以丹参注射液中酚酸类物质最为显著。

**关键词** 丹参注射液; 心肌能量代谢; 贡献率; 离体心脏灌注

中图分类号 R944.1 文献标识码 A 文章编号 1000-5048(2011)04-0348-06

## Effect of content variation of *Danshen* water-soluble components on myocardial energy metabolism in isolated ischemia-reperfusion rat hearts

HUANG Li-hua<sup>1</sup>, CHEN Yuan-cheng<sup>2</sup>, CHENG Yu<sup>1</sup>, HE Hua<sup>1</sup>, SI Qian<sup>1</sup>, TANG Yi-qun<sup>3</sup>, LIU Xiao-quan<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Center of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;

<sup>2</sup>Institute of Antibiotics, Fudan University Huashan Hospital, Shanghai 200040;

<sup>3</sup>Department of Clinical Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** To investigate the effect of content variation of water-soluble components in *Danshen* injection on the myocardial energy metabolism in the isolated ischemia/reperfusion rat hearts. Rats were randomly divided into model groups, *Danshen* injection group and four component-adding groups. Drugs were administered when myocardial ischemia/reperfusion injury occurred, and the pharmacodynamic indices such as acetyl coenzyme A (AcCoA), coenzyme A (CoA), adenine nucleotides (AMP, ADP and ATP) and myocardial ischemia markers (lactate (LD), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK)) were determined. Compared with the control group, the AcCoA/CoA ratio decreased significantly after adding protocatechuic acid (PA) ( $P < 0.05$ ), while the total adenosine (TAN) and adenylate energy charge (AEC) increased obviously ( $P < 0.05$ ). The effect of adding salvianolic acid B (SalB) was similar to PA, but the regulatory effect on the energy metabolism was weaker in total. A back-propagation neural network model was developed using experimental data, and the contribution of the four water-soluble components' contents to the pharmacodynamic indices were evaluated according to Garson algorithm. The effect of various components on the fatty acids and high-energy phosphate compounds ranked as PA >

SalB > SalA > DSS; and the impact of components on the myocardial ischemia markers could be put in the following order: PA > SalB > DSS > SalA. The results suggest that water-soluble components of *Danshen* injection could save myocardial ATP and increase AEC, meanwhile, the AcCoA/CoA ratio in the tissue was reduced, thereby improving the efficiency of myocardial energy metabolism, during which the phenolic acids showed significant effects.

**Key words** *Danshen* injection; myocardial energy metabolism; contribution value; isolated heart perfusion

This study was supported by the National Natural Science Foundation of the China (No. 30772609)

现代药理学研究发现,丹参(*Salvia miltiorrhiza*)及其有效成分在心绞痛等心肌缺血类疾病的治疗方面具有独特的优势<sup>[1]</sup>,丹参注射液的主要成分包括丹参素(*danshensu*, DSS)、丹酚酸 B(*salvianolic acid B*, SalB)、丹酚酸 A(*salvianolic acid A*, SalA)及原儿茶醛(*protocatechuic aldehyde*, Pal)。最近研究表明,在中药中单一组分的药理作用往往与整体有所不同,中药中提取的单个组分与整个提取物相比,其药理活性相差很多<sup>[2]</sup>。此外有文献报道,不同批次丹参注射液中 SalA 和 SalB 存在数十倍的差异<sup>[3-4]</sup>,这种差异可能影响注射液的疗效。文献[5]基于中药整体性采用“外加法”研究了丹参注射液多组分间的药代动力学相互作用,分别外加 4 种主要组分,从整体角度阐明了丹参注射液中 4 种成分的含量变化对其他成分药代动力学行为的影响。但尚未见研究考察这种药代动力学相互作用对药效学的影响,本研究通过改变丹参各水溶性成分试图阐明各组分含量的改变对大鼠心肌能量代谢调节作用的影响及各组分之间药效学相互作用,旨在为多组分中药的药效学研究提供新的思路和方法。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

丹参注射液(正大青春宝有限公司,批号:0903011,含 DSS 234  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、Pal 247  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、SalA 10.75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、SalB 78.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , HPLC 法测定);丹参素钠(纯度:99%)、原儿茶酸(PA,纯度:99%)、SalA(纯度:99%)、SalB(纯度:99%)均由正大青春宝有限公司提供;辅酶 A(CoA)、乙酰辅酶 A(AcCoA)、高能磷酸化合物 AMP、ADP、ATP 标准品、棕榈酸、磺基水杨酸、二硫苏糖醇(DTT)均由美国 Sigma 公司提供。四丁基溴化铵(离子对试剂,南京化学试剂一厂);无脂肪酸牛血清白蛋白(南京探求生物技术有限公司);乳酸(LD)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)试剂盒(南京建成生物研究所);甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Merck 公

司);其余试剂均为市售分析纯,实验用水为超纯水。

### 1.2 仪器

LC-2010C HPLC 仪(日本岛津公司);Langendorff 离体心脏灌流装置(中国药科大学临床药理教研室自制);5810R 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);Powerwave 340 I 酶标仪(美国 Bio-Tek 公司);OASIS HLB 小柱(美国 Waters 公司)。

### 1.3 动物

雄性 SD 大鼠,体重 280 ~ 320 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,合格证号:SCXK(沪)2008-0016。

## 2 方法

### 2.1 动物模型的制备及分组

大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉(0.35 g/kg)后开胸,迅速取出心脏,置于装有 4  $^{\circ}\text{C}$  含氧培养皿中,清洗残留血液后迅速将心脏悬于 Langendorff 恒流灌流装置上,并用线结扎固定。灌流方法:灌流液 75 mL 循环灌流,添加脂肪酸组灌流液中脂肪酸的浓度为 0.3 mmol/L。用含氧 K-H 液<sup>[6]</sup>平衡 15 min 后,再以含脂肪酸灌流液 11 mL/min 的速度灌流 30 min 后,再以 0.5 mL/min 低速度灌流 30 min,然后恢复 11 mL/min 的速度灌流 30 min。灌流液温度均为(38  $\pm$  0.5)  $^{\circ}\text{C}$ 。对于给药组,将流速调至 0.5 mL/min 的同时加入所需药。灌流结束后,迅速摘取大鼠心脏,贮存于 -70  $^{\circ}\text{C}$  液氮中,待测。

大鼠 36 只,随机分成 6 组,每组 6 只。即:(A)模型对照组;(B)丹参注射液组;(C)丹参注射液基础上外加 3 倍含量丹参素组;(D)丹参注射液基础上外加 10 倍含量 SalB 组;(E)丹参注射液基础上外加 10 倍含量 SalA 组;(F)丹参注射液基础上外加 3 倍含量 PA 组。各成分外加幅度依据文献[6]不同批次丹参注射液各组分含量的差异来确定,由于 SalA 和 SalB 的含量在不同批次丹参注

射液中的差异高达 10 倍,因此在本实验中这两个成分的外加幅度也设为 10 倍。各组所给药物中不同成分的含量见表 1。

**Table 1** Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ ) of DSS, SalB, SalA and PA in each group

Group	DSS	SalB	SalA	PA
DI	9.36	3.14	0.43	9.864
DI + DSS	28.08	3.14	0.43	9.864
DI + SalB	9.36	31.4	0.43	9.864
DI + SalA	9.36	3.14	4.3	9.864
DI + PA	9.36	3.14	0.43	29.592

DI: *Danshen* injection; DSS: *Danshensu*; SalB: *Salvianolic acid B*; SalA: *salvianolic acid A*; PA: *Protocatechuic aldehyde*

## 2.2 大鼠心肌组织中 CoA、AcCoA 的测定

**2.2.1 色谱条件** 测定条件根据文献[7]略加改进。色谱柱为 Shim-pack 柱 (VP-ODS, 150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ , 检测波长 260 nm。流动相 A: 0.2 mol/L 乙酸铵水溶液 (含 0.8% 醋酸)-B: 乙腈, 梯度洗脱: 0 ~ 4.5 min, 99% A; 4.5 ~ 13 min, 99% ~ 97% A; 13 ~ 18 min, 97% A; 18 ~ 23 min, 97% ~ 92% A; 23 ~ 27 min, 92% ~ 99% A; 27 ~ 32 min, 99% A。流速为 1 mL/min。

**2.2.2 组织样品的处理** 取大鼠左心室 0.2 g, 加 5% 磺基水杨酸 600  $\mu\text{L}$  (含 3 mol/L DTT), 4  $^{\circ}\text{C}$  匀浆后 10 000 r/min 离心 10 min。取上清液 600  $\mu\text{L}$ , 加入 1 mol/L NaOH 20  $\mu\text{L}$  碱化后进行固相萃取。萃取过程如下: 加入甲醇 600  $\mu\text{L}$ , 待洗脱完后加入超纯水 600  $\mu\text{L}$ , 依同样的方式加入甲醇、0.05% 磺基水杨酸、样品、0.05% 磺基水杨酸及正己烷各 600  $\mu\text{L}$ , 最后用甲醇 (含 1% 氨水) 600  $\mu\text{L}$  洗脱 2 次, 收集洗脱液于 30  $^{\circ}\text{C}$  下氮气吹干。超纯水 130  $\mu\text{L}$  复溶, 复溶液于 10 000 r/min 离心 10 min, 取 30  $\mu\text{L}$  上清进样。

## 2.3 大鼠心肌组织中 ATP、ADP、AMP 的同时测定

**2.3.1 色谱条件** 参照文献[7]略加改进。色谱柱: Shim-pack 柱 (VP-ODS, 200 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 检测波长 254 nm; 流动相 A: 70 mmol/L 磷酸二氢钠 + 3 mmol/L 四丁基溴化铵 (用 1 mol/L NaOH 调 pH 至 6.5), 流动相 B: 甲醇, 流动相 A-流动相 B (90:10); 流速 1 mL/min。

**2.3.2 组织样品的处理** 取大鼠左心室 0.2 g, 加 5% 磺基水杨酸 600  $\mu\text{L}$ , 于 4  $^{\circ}\text{C}$  匀浆。匀浆液 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 300  $\mu\text{L}$ , 加入 1 mol/L NaOH 20  $\mu\text{L}$  碱化后离心, 取上清 30  $\mu\text{L}$

进样。

## 2.4 大鼠心肌组织中 LD、LDH、CK 的测定

取大鼠心肌组织 0.1 g, 加生理盐水制成 10% 的匀浆液, 于 3 500 r/min 离心 5 min, 取上清液, 严格按照试剂盒说明书用酶标仪进行测定。

## 2.5 神经网络模型的建立及贡献率的计算

通过应用 MATLAB 软件 (美国 Mathworks 公司) 中的神经网络工具箱, 建立反向传播神经网络模型描述丹参注射液主要活性成分在离体大鼠心脏里的药效相互作用。每个神经网络包含三层神经元, 分别为输入层、隐含层和输出层, 输入层变量包括 4 种丹参水溶性成分含量和协变量, 输出层为药效指标。输入层到隐含层的传递函数为对数 S 型传递函数, 隐含层到输出层的传递函数为线性传递函数, 这样可实现输入层到输出层的非线性映射, 表征了各水溶性成分含量对药效指标的非线性影响。评价神经网络中输入神经元对输出变量的贡献率有多种计算方法, 其中应用最为广泛的是 Garson 算法, 计算公式如下<sup>[8-9]</sup>:

$$C_{ik} = \frac{\sum_{j=1}^I \frac{|w_{ji}| |v_{jk}|}{\sum_{i=1}^I |w_{ji}|}}{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^I \frac{|w_{ji}| |v_{jk}|}{\sum_{i=1}^I |w_{ji}|}} \quad (1)$$

其中,  $w_{ji}$  表示输入层第  $i$  个神经元与隐含层中第  $j$  个神经元的连接权重;  $v_{jk}$  表示隐含层中第  $j$  个神经元与输出层第  $k$  个神经元的连接权重;  $C_{ik}$  为输入层神经元  $x_i$  对输出层神经元  $y_k$  的 Garson 贡献率。I 和 J 分别为输入层和隐含层神经元数目。为获得较为准确的计算结果, 同时评估其稳定性, 对 Garson 贡献率的计算重复 5 次以获得平均值和标准偏差。

## 2.6 统计学处理

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  形式表示, 统计学采用  $t$  检验, 所有计算工作均在 Excel 软件中完成。

## 3 结果

### 3.1 丹参水溶性成分含量改变对大鼠心肌能量代谢各指标的影响

**3.1.1 对大鼠心肌组织中 AcCoA/CoA 的影响** 离体大鼠心脏灌流 90 min 后, 各灌流组心肌组织中 CoA、AcCoA 浓度及其比值见表 2。与模型对照组相比, 外加 SalB、SalA 及 PA 组显著降低 AcCoA/

CoA 值( $P < 0.01$ );与注射液组相比,外加 SalB 及 PA 组显著降低 AcCoA/CoA 值( $P < 0.01$ )。

**Table 2** Concentration of CoA, AcCoA and AcCoA/CoA ratio in isolated rat hearts following ischemia- reperfusion ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Group	CoA/ (nmol/g)	AcCoA/ (nmol/g)	AcCoA/CoA/ (nmol/g)
Model	38.20 ± 7.31	18.96 ± 5.46	0.53 ± 0.27
DI	51.86 ± 9.51**	19.44 ± 4.10	0.39 ± 0.10
DI + DSS	54.98 ± 13.66*	15.45 ± 2.37	0.31 ± 0.13
DI + SalB	111.64 ± 37.03**	5.46 ± 1.51***	0.07 ± 0.04***
DI + SalA	47.92 ± 24.87	5.17 ± 1.18***	0.11 ± 0.04**
DI + PA	39.60 ± 18.94	6.21 ± 1.77***	0.18 ± 0.07***

Detailed concentrations of DSS, SalB, SalA and PA in each group were shown in Table 1

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs model group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$  vs DI group

**Table 3** Concentration of adenine nucleotides, TAN<sup>a</sup> and AEC<sup>b</sup> in isolated rat hearts following ischemia-reperfusion ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Group	AMP/(nmol/g)	ADP/(nmol/g)	ATP/(nmol/g)	TAN/(nmol/g)	AEC
Model	49.05 ± 12.78	224.68 ± 38	3.57 ± 0.94	282.65 ± 50.5	0.41 ± 0.02
DI	42.67 ± 10.46	173.2 ± 25.89**	4.72 ± 1.68	228.28 ± 28.91*	0.41 ± 0.02
DI + DSS	28.04 ± 7.41***	187.32 ± 70.44	4.13 ± 0.9	216.9 ± 73.38	0.43 ± 0.07
DI + SalB	42.96 ± 8.37	232.02 ± 35.43#	4 ± 0.59	253.69 ± 33.57	0.42 ± 0.02
DI + SalA	39.45 ± 6.36	186.43 ± 11.01*	4.05 ± 0.86	228.92 ± 11.97*	0.42 ± 0.01
DI + PA	34.89 ± 2.21*	223.48 ± 18.17##	5.84 ± 1.78*	262.88 ± 21.49#	0.44 ± 0.01***

<sup>a</sup>Total acid number; <sup>b</sup>Adenylate energy charge

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs model group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$  vs DI group

3.1.3 对离体大鼠心脏中 LD、LDH、CK 含量的影响 在含有脂肪酸的情况下,与丹参注射液组相比,外加 SalB 显著降低了心肌中 LD、LDH 和 CK 含量( $P < 0.05$ ),见表 4。

**Table 4** Content of lactate (mmol/g prot), lactic acid dehydrogenase and creatine kinase in ischemia reperfusion isolated rat hearts( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Group	LDH/ (U/g prot)	LD/ (mmol/g prot)	CK/ (U/mg prot)
Model	5 434.32 ± 342.42	4.89 ± 1.62	2.34 ± 0.31
DI	5 776.01 ± 353.89	1.98 ± 1.2*	2.67 ± 0.31
DI + DSS	4 102.81 ± 253.54***	3.73 ± 1.02	1.97 ± 0.4***
DI + SalB	4 842.24 ± 266.18***	1.63 ± 0.65***	2.34 ± 0.31##
DI + SalA	5 507.53 ± 1 567.21	4.42 ± 0.67*	2.52 ± 0.44
DI + PA	4 288.27 ± 1 809.82	2.57 ± 1.01	2.11 ± 0.11##

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs model group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$  vs DI group

3.2 丹参水溶性成分对心肌能量代谢各指标贡献率大小及药效相互作用

3.2.1 丹参水溶性成分药效相互作用实验数据的神经网络模型建立结果 以 CoA 及 AcCoA 为例,图 1 示意了神经网络模型对指标 CoA 和 AcCoA 实验数据的模拟结果。由图 1 可见,模型预测值与实

3.1.2 对大鼠心肌组织腺苷酸含量和能荷的影响 各组分心肌组织中腺苷酸含量和能荷值见表 3。其中总腺苷酸量(TAN) = AMP + ADP + ATP;腺苷酸能荷(AEC) = (ATP + ADP/2)/TAN<sup>[7]</sup>,用以反映心肌能量代谢的总体情况。

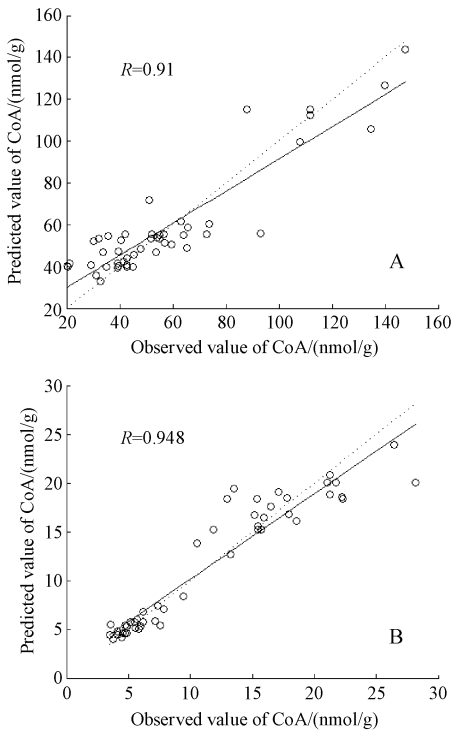
与模型对照组相比,外加 PA 组显著提高了大鼠心肌组织中 ATP 的含量( $P < 0.05$ ),AEC 显著升高( $P < 0.01$ ),外加 SalA 组显著降低了心肌组织中 TAN( $P < 0.05$ )。与丹参注射液组相比,外加 PA 组能显著提高心肌腺苷能荷( $P < 0.05$ )。

验结果较为接近,所建立的神经网络很好地预测了 CoA 和 AcCoA 的动态变化,提示所建神经网络充分学习了 CoA 及 AcCoA 数据的内在变化趋势。

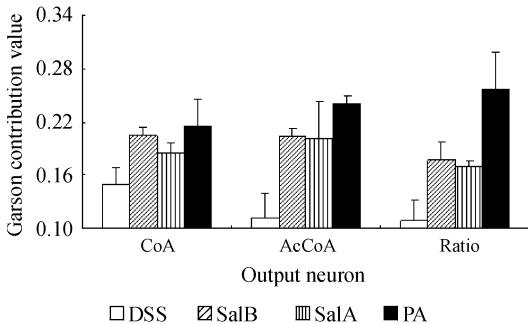
3.2.2 丹参水溶性成分的改变对调节大鼠心肌组织中 AcCoA/CoA 的贡献率 由图 2 可见,PA 对脂肪酸代谢的贡献率最高,然后是 SalB, SalA 次之,DSS 对脂肪酸代谢的贡献率最低。可见 PA 对脂肪酸代谢的影响强于其他活性成分所造成的影响。

3.2.3 丹参水溶性成分的改变对调节大鼠心肌组织腺苷酸含量和能荷的贡献率 丹参注射液各组分贡献率结果见图 3。由图可见,就能量代谢相关指标而言,输入变量对能量代谢指标贡献率的总体平均由大到小依次为:PA、SalB、SalA、DSS。

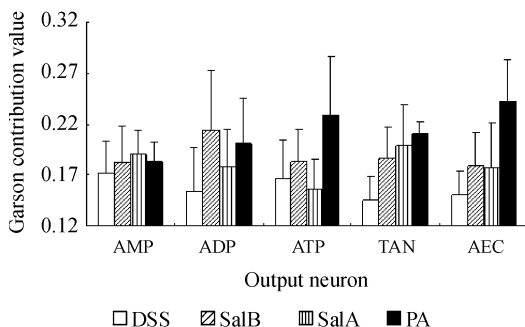
3.2.4 丹参水溶性成分的改变对调节离体大鼠心脏中 LD、LDH、CK 含量的贡献率 采用神经网络模型计算丹参注射液各组分贡献率结果见图 4。由图可见,就心肌缺血损伤指标而言,各输入变量的贡献率平均排序从大到小依次为:PA、SalB、SalA、DSS。



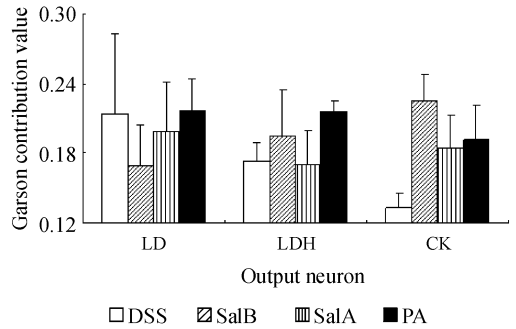
**Figure 1** Correlation between actual and predicted data of CoA (A) and AcCoA (B). Dotted line and solid line represent lines of consistency and linear regression, respectively



**Figure 2** Garson contribution values of Danshen water-soluble component to the CoA, AcCoA and the AcCoA/CoA ratio ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )



**Figure 3** Garson contribution value of Danshen water-soluble components to the adenine nucleotides, TAN and AEC ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )



**Figure 4** Garson contribution value of Danshen water-soluble components to the LD, LDH and CK ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

## 4 讨论

目前对中药的研究大部分是遵循西药的模式,而忽视了中药及其复方的整合性的调节作用。中药是一个复杂的巨系统,无论是复方还是单方,其药效都是其中多种化学成分相互作用所产生的综合效果。其作用方式是通过多途径、多环节、多系统和多靶点对机体进行干预<sup>[10]</sup>,因此研究中药的药代动力学与药效学相互作用应以整体性为前提。由于中药成分的复杂性,增加了药物的相互作用研究的复杂性<sup>[11]</sup>。因此在遵循中药整体性的前提下,以外加的方式考察丹参注射液各成分对大鼠离体心肌能量代谢调节的影响。

原儿茶醛发挥抗心肌缺血作用是通过原儿茶醛进入体内会迅速氧化生成原儿茶酸<sup>[12]</sup>,后者通过邻二酚部位的甲基化实现对脂肪酸氧化的抑制,从而优化心肌能量代谢<sup>[13]</sup>。由于本实验采用离体心脏灌流技术考察丹参注射液各组分对心肌能量代谢的影响作用,因此本文将该批次丹参注射液中原儿茶醛以等物质的量换算成原儿茶酸来考察原儿茶醛对心肌能量代谢的贡献率大小。

心肌利用能量的代谢形式是 ATP,其来源以葡萄糖和游离脂肪酸为主<sup>[14]</sup>。由于等物质的量的脂肪酸氧化生成的 AcCoA 远比葡萄糖多,因此,心肌能量代谢变化可通过心肌组织中 AcCoA/CoA 来反映<sup>[7,15]</sup>。本文通过外加丹参 4 种水溶性成分发现,酚酸类物质能显著降低 AcCoA/CoA 比值,抑制脂肪酸氧化,提高心肌代谢效率。通过神经网络模型对 AcCoA 实验数据和 AcCoA/CoA 比值的模拟结果显示,贡献率的总体排序由大到小依次为:PA、SalB、SalA、DSS。这提示 PA 对脂肪酸代谢的影响强于其他活性成分所造成的影响。

能量代谢相关指标亦可得出类似的结论,贡献率的总体排序由大到小依次为:PA、SalB、SalA、DSS。这说明,丹参注射液中PA对能量代谢相关指标的影响是最大的,SalB和SalA对能量指标的影响居于中等,丹参素对能量代谢相关指标的影响最弱,这与前一部分探讨对脂肪酸代谢相关指标的贡献率计算结果一致,提示了丹参素作为“佐成分”的特征。

在缺氧状态下,葡萄糖酵解生成乳酸,因此乳酸也可作为反映心肌氧供水平的一个重要指标,乳酸脱氢酶及肌酸激酶都可作为心肌损伤指标。神经网络模型对该3个指标的实验数据和模拟结果显示,贡献率排序由大到小为:PA、SalB、DSS、SalA。该结果与对脂肪酸代谢和能量代谢指标贡献率排序结果总体接近,提示丹酚酸类物质的药效活性强于丹参素。

本实验表明,丹参注射液中主要成分通过外加法对3类指标施加的影响顺序基本一致,其贡献率由大到小为:PA、SalB、SalA、DSS,说明丹参注射液中有机酸类物质对心肌能量代谢的调节作用占据主导地位。这还可能与酚酸类物质的抗氧化作用<sup>[16]</sup>以及药代动力学相互作用有关<sup>[5]</sup>。另外,本文通过外加4种水溶性成分考察整体情况下,4种成分对调节心肌能量代谢的贡献率并不一致,提示中药质量控制在控制主要成分含量的同时还需要进一步控制对药效学有影响的其他相关成分。

### 参考文献

[1] Zhou L, Zuo Z, Chow MS. Danshen: an overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use [J]. *J Clin Pharmacol*, 2005, **45**(12): 1 345 - 1 359.

[2] Ren Y, Houghton PJ, Hider RC, et al. Novel diterpenoid acetylcholinesterase inhibitors from *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Planta Med*, 2004, **70**(3): 201 - 204.

[3] Xu JZ, Shen J, Cheng YY, et al. Simultaneous detection of seven phenolic acids in *Danshen* injection using HPLC with ultraviolet detector [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2008, **9**(9): 728 - 733.

[4] 余丹 (Yu D), 柴建国 (Chai JG), 曹彦光 (Cao YG), 等. 丹

参注射液中丹酚酸 B 对丹参素药代动力学影响 [J]. *中国药科大学学报 (J China Pharm Univ)*, 2009, **40**(3): 258 - 262.

[5] Chang BB, Zhang L, Cao WW, et al. Pharmacokinetic interactions induced by content variation of major water-soluble components of *Danshen* preparation in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, **31**(5): 638 - 646.

[6] Kantor PF, Lucien A, Kozak R, et al. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase [J]. *Circ Res*, 2000, **86**(5): 580 - 588.

[7] 张琳 (Zhang L), 常勃勃 (Chang BB), 曹婉雯 (Cao WW), 等. 丹参素对大鼠离体心脏缺血再灌注心肌能量代谢的影响 [J]. *中国药科大学学报 (J China Pharm Univ)*, 2010, **41**(3): 278 - 282.

[8] Garson GD. Interpreting neural-network connection weights [J]. *Artif Intell Expert*, 1991, **6**(4): 46 - 51.

[9] Huang Z, Chen H, Hsu CJ, et al. Credit rating analysis with support vector machines and neural networks: a market comparative study [J]. *Decis Support Syst*, 2004, **37**(4): 543 - 558.

[10] 吴水生 (Wu SS), 施江 (Shi J), 张小如 (Zhang XR). 中药复方药效学研究中重视多靶点作用的现实意义 [J]. *中国中西医结合杂志 (Chin J Integr Med)*, 2001, **21**(7): 545 - 456.

[11] 曹俊岭 (Cao JL), 李祖伦 (Li ZL), 付强 (Fu Q). 中药及复方整合作用的研究 [J]. *中草药 (Chin Trad Herb Drug)*, 2007, **38**(1): 附 2 - 4.

[12] Xu M, Zhang Z, Fu G, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of protocatechuic aldehyde and its phase I and II metabolites in rat [J]. *J Chromatogr B Analyt Biomed Life Sci*, 2007, **856**(1/2): 100 - 107.

[13] Cao YG, Zhang L, Ma C, et al. Metabolism of protocatechuic acid influences fatty acid oxidation in rat heart: new anti-angina mechanism implication [J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, **77**(6): 1 096 - 1 104.

[14] 张铭 (Zhang M). 心肌缺血的能量代谢障碍治疗进展 [J]. *心脏杂志 (Chin Heart J)*, 2006, **18**(4): 467 - 468, 474.

[15] 马晨 (Ma C), 张善飞 (Zhang SF), 曹彦光 (Cao YG), 等. 丹参注射液对离体大鼠心肌能量代谢的调节作用 [J]. *中国药科大学学报 (J China Pharm Univ)*, 2009, **40**(2): 147 - 151.

[16] Zhu YZ, Huang SH, Tan BK, et al. Antioxidants in Chinese herbal medicines: a biochemical perspective [J]. *Nat Prod Rep*, 2004, **21**(4): 478 - 489.